



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

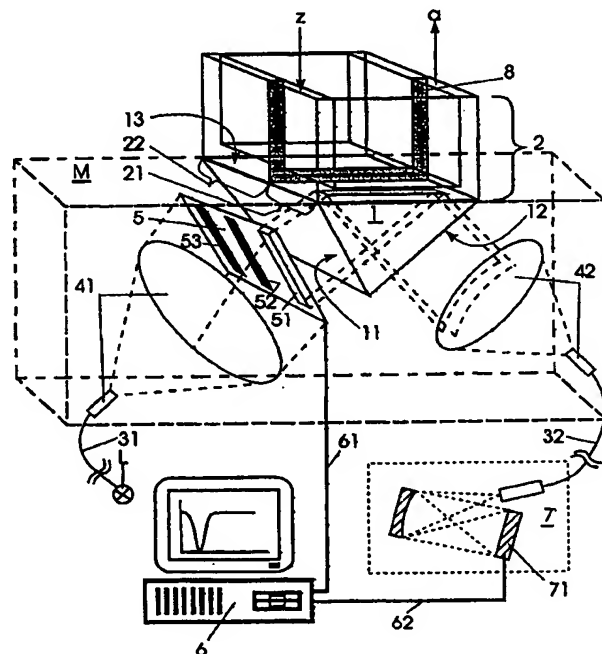
(51) Internationale Patentklassifikation 6 : G01N 21/55, 33/543		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/22419
		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:	20. April 2000 (20.04.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/02353		(81) Bestimmungsstaaten: US , europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 6. April 1999 (06.04.99)			
(30) Prioritätsdaten: 198 14 811.9 2. April 1998 (02.04.98) DE		Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): INSTITUTE FÜR PHYSIKALISCHE HOCHTECHNOLOGIE E.V. [DE/DE]; Winzerlaer Strasse 10, D-07745 Jena (DE). ANALYTIK JENA GMBH ANALYSENMESSGERÄTE UND LABOREINRICHTUNGEN [DE/DE]; Konrad-Zuse-Strasse 1, D-07745 Jena (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): HOPPE, Lutz [DE/DE]; Leipziger-Strasse 44, D-07743 Jena (DE). PFEIFFER, Peter [DE/DE]; Berggasse 5, D-07745 Jena (DE). SCHWOTZER, Günter [DE/DE]; Am Hankelsberg 12, D-07778 Dorn-dorf-Stednitz (DE).			
(74) Anwalt: PFEIFFER, Rolf-Gerd; Pfeiffer & Partner, Winzerlaer Strasse 10, D-07745 Jena (DE).			

(54) Title: ARRANGEMENT FOR SURFACE PLASMON RESONANCE SPECTROSCOPY

(54) Bezeichnung: ANORDNUNG FÜR DIE OBERFLÄCHENPLASMONEN-RESONANZ-SPEKTROSKOPIE

(57) Abstract

The invention relates to an arrangement for surface plasmon resonance spectroscopy. The objective of the invention is to create an arrangement in a miniaturized form, whereby said arrangement is embodied as a portable unit that is economical to produce and can be used to carry out simultaneous multi-component analysis, especially with respect to interaction between bio-molecules. To achieve this aim, the inventive device consists of an optical prism (1) with a sample cell (2) associated therewith and at least two sample detection areas (21; 22) that are provided with a thin metal coating that is selected for the implementation of the SPR method and which contains, at least partially, surface-immobilized areas. Light emanating from a broadband light source (L) is conducted via an optic fiber (31) and collimated by a collimator (41) with an aperture that is adapted to the base surface of the prism, making its way to an entrance surface (11) of the optical prism (1) and a multi adaptable diaphragm (5) is provided between the collimator (41) and the entrance surface (11). Said diaphragm clears a defined optical path to the base surface (13) of the prism in a chronologically successive manner and the respective switching states thereof can be fed to an evaluation and control unit (6) via a data and control line (61) wherein current diaphragm switching states can be allocated to spectra corresponding to said switching states, whereby the spectra are obtained by detecting the light that leaves the exit surface (12) of the prism by means of another collimator (42) that is adapted to the base surface (13) of the prism in the aperture and whose exit is connected to another optic fiber (32) and the exit thereof forms the entrance to a polychromator (7) wherein the spectrally decomposed light is supplied to a CCD or diode array (71), whereby the exit thereof is connected to the evaluation and control unit (6) by means of a data line (62).



(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft eine Anordnung für die Oberflächenplasmonen-Resonanz-Spektroskopie. Die Aufgabe der Erfindung, eine derartige Anordnung in miniaturisierter Form zu schaffen, die als kostengünstige und transportable Einheit ausgebildet ist und mit welcher zugleich eine Multikomponentenanalyse, insbesondere bei der Wechselwirkung zwischen Biomolekülen, durchgeführt werden kann, wird dadurch gelöst, daß die Anordnung aus einem optischen Prisma (1) besteht, dem eine Probenküvette (2) zugeordnet ist und wenigstens zwei Probenerfassungsbereiche (21; 22) vorgesehen sind, die mit einer für das Verfahren der SPR ausgewählten dünnen Metallschicht, die zumindest teilweise oberflächenimmobilisierte Bereiche beinhaltet, versehen sind, wobei von einer breitbandigen Lichtquelle (L) ausgehendes Licht über eine Lichtleitfaser (31) der Eintrittsfläche (11) des optischen Prismas (1) durch einen der Prismenbasisfläche (13) in seiner Apertur angepaßten Kollimator (41) kollimiert zugeführt wird, wobei zwischen dem Kollimator (41) und der Eintrittsfläche (11) eine mehrfach schaltbare Blende (5) vorgesehen ist, die zeitlich nacheinander lediglich einen definierten Lichtweg zur Prismenbasisfläche (13) freigibt und deren jeweilige Schaltzustände einer Auswerte- und Steuereinheit (6) über eine Daten- und Steuerleitung (61) zuführbar sind, in der die aktuellen Blendenschaltzustände den jeweils diesem Schaltzustand entsprechenden Spektren zuordenbar sind, wobei die Spektren erhalten werden durch Erfassen des die Prismenaustrittsfläche (12) verlassenden Lichtes mittels eines weiteren, der Prismenbasisfläche (13) in der Apertur angepaßten Kollimators (42), dessen Ausgang mit einer weiteren Lichtleitfaser (32) verbunden ist, und deren Ausgang den Eingang eines Polychromators (7) bildet, innerhalb dessen das spektral zerlegte Licht einem CCD- oder Diodenarray (71) zugeführt wird, deren Ausgang mit der Auswerte- und Steuereinheit (6) über eine Datenleitung (62) in Verbindung gebracht ist.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Anordnung für die Oberflächenplasmonen-Resonanz-Spektroskopie

Die Erfindung betrifft eine Anordnung für die Oberflächenplasmonen-Resonanz-Spektroskopie, die insbesondere zu direkten Untersuchungen
5 der Wechselwirkung zwischen Biomolekülen einsetzbar ist und eine Multikomponentenanalyse ermöglicht.

Es ist eine sehr empfindliche Methode zur Charakterisierung von Grenzflächen bekannt, die als Oberflächenplasmonen-Resonanz-
10 Spektroskopie, üblicherweise als SPR, (Surface Plasmon Resonance) in der Literatur bezeichnet wird. Sie beruht auf der optischen Anregung von Oberflächenplasmonen in dünnen Metallschichten. Die Resonanzbedingungen für die Anregung der Oberflächenplasmonen hängen stark von den optischen Eigenschaften des die Metallschicht
15 umgebenden Dielektrikums ab. Somit ist die Bestimmung von Brechzahl und Schichtdicke dünner dielektrischer Schichten grundsätzlich mit einer hohen Genauigkeit möglich.

Die SPR-Spektroskopie findet zunehmend in der biochemischen Analytik
20 Anwendung, da mit ihr die direkte Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Biomolekülen möglich ist (z.B. Antikörper/Antigen-Reaktionen). Dazu wird ein Reaktionspartner (Ligant) auf der Metalloberfläche immobilisiert, der andere Reaktionspartner (Analyt) wird in Lösung über die Oberfläche geleitet.

25 Die Wechselwirkung ist als Schichtdickenzuwachs direkt nachweisbar, es ist keine Markierung der Reaktionspartner wie z.B. beim Radioimmunoassay (RIA) oder dem Enzymimmunoassay (ELISA) notwendig.

Diese und weitere Methoden nach dem Stand der Technik sind
30 ausführlich von Striebel, Ch.; Brecht, A.; Gauglitz, G. in Biosensors & Bioelectronics 9 (1994), 139-146 beschrieben. Vorliegender Erfindung am nächsten kommt dabei die dort beschriebene SPR-Methode, bei der von einer Lichtleitfaser ausgehendes Licht über einen Kollimator und einen optischen Polarisator auf ein optisches Prisma gelenkt wird, dessen
35 Basisfläche mit einer die SPR ermöglichenden dünnen Silberschicht versehen ist, welche mit einem Chip abgedeckt ist, der mit einem sich

senkrecht zur Beleuchtungsrichtung erstreckenden Probendurchflußkanal
versehen ist. Das an der Silberschicht entsprechend der jeweiligen
Oberflächenbelegungen beeinflusste und reflektierte Licht wird dann über
eine Lichtleitfaser einem Diodenarrayspektrometer zugeführt. Eine
5 simultane Multikomponentenanalyse ist mit der dort beschriebenen
Anordnung nicht möglich, weil nur ein optischer und nur ein fluidischer
Kanal vorsehbar ist.

In WO 97/40366 ist eine Anordnung beschrieben, bei der ein Nachweis
von mehreren Proben, die auf einer Substratplatte angeordnet sind,
10 dadurch realisiert wird, daß die von den Proben reflektierten Strahlen
gleichzeitig auf einen matrixförmigen Empfänger (CCD-Matrix oder
Videokamera) abgebildet werden. Für die Bestimmung der
Resonanzwellenlänge werden alle Proben nacheinander mit Licht
unterschiedlicher Wellenlänge beleuchtet. Zur Wellenlängenselektion ist
15 eine durchstimmbare Lichtquelle oder ein scannender Monochromator im
Sendestrahlangang vorgesehen. Mit der spektralen Messung werden zwar
die Nachteile der weiter unten beschriebenen Intensitätsmessung
umgangen, jedoch ist dieses Konzept aufgrund der notwendigen
Komponenten nur sehr kostenaufwendig und auch nur in einem relativ
20 großen stationären Gerät zu realisieren.

Weiterhin sind nach dem Stand der Technik Anordnungen bekannt, die
sich der SPR-Methode bedienen, jedoch nur eine reine Winkeldetektion
des total reflektierten Lichtes vorsehen.

25 So ist aus der Produktbeschreibung der Fa. Biacore AB, Rapskatan 7,
S-75450 Uppsala, Schweden 1996, eine Vorrichtung bekannt, deren
Aufbau grundsätzlich der oben beschriebenen Anordnung entspricht,
wobei mit konvergenten Lichtstrahlen beleuchtet wird und dem zweiten
Linsensystem unmittelbar und in baulicher Einheit ein Diodenarray als
30 detektierendes Element zugeordnet ist. Ein solcher Aufbau bedingt einen
relativ großen, mechanisch sehr massiv ausgebildeten Meßkopf, der
ausschließlich in einem stationären Gerät zur Anwendung gelangen kann.
Weiterhin beschreiben Berger, Ch. E.H. et al in "Surface Plasmon
Resonance Multisensing", Anal. Chem. 1998, 70, S. 703-706 eine
35 Anordnung, die zwar eine mehrkanalige Messung ermöglicht, jedoch
liegt diesem Meßprinzip eine Intensitätsmessung zugrunde, die mit den

bekannten Nachteilen der hohen Anforderungen an die Stabilität der Lichtquelle und der Empfängerelemente verbunden ist, die nur mit einem erheblichen Steuer- und Regelaufwand erzielbar sind. Weiterhin begrenzt die dort beschriebene Anordnung den grundsätzlich zur Verfügung stehenden Winkelbereich, in dem Plasmonen-Resonanzschwingungen detektierbar sind, da nur ein kleiner Winkelbereich durch die dort beschriebene Meßmethode tatsächlich genutzt werden kann. Darüber hinaus weist die dort beschriebene Anordnung, die sich einer Videokamera und -aufzeichnung bedient, einen relativ hohen gerätetechnischen Aufwand auf und eine simultane mehrkanalige Messung ist nicht gegeben, da die Meßergebnisse nur im Nachgang zeitlich aufeinanderfolgend auswertbar sind.

Eine weitere zu dieser Gruppe von Anordnungen gehörige Anordnung wird von Brink, G. et al in "Near infrared surface plasmon resonance in silicon-based sensor", Sensors and Actuators B 24-25, 1995, S. 756-761 beschrieben. Dort wird für den Probenchip ein Siliziumwafer eingesetzt, das mit einer Stufe versehen ist, die unterschiedlich beschichtet ist, wodurch, wenn der Beleuchtungsspot beide Flächen der Stufe erfaßt, zwei Resonanzwinkelbereiche und damit zwei Kanäle detektierbar sind. Selbst wenn dort mehrere Stufen eingesetzt werden würden, wäre die Anzahl der nutzbaren Kanäle grundsätzlich beschränkt durch den Winkelbereich, in dem die SPR-Methode funktioniert. Noch gravierender wäre jedoch der Nachteil, daß durch die unterschiedliche spektrale Lage der Stufen die Empfindlichkeit der Stufen untereinander nicht identisch ist.

Aufgrund der genannten Probleme ist der kommerziell verfügbaren SPR-Meßtechnik bislang eine breite Anwendung versagt geblieben.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine miniaturisierte Anordnung für die Oberflächenplasmonen-Resonanz-Spektroskopie zu schaffen, die als kostengünstige und transportable Einheit ausgebildet ist und mit welcher zugleich eine Multikomponentenanalyse, insbesondere bei der Wechselwirkung zwischen Biomolekülen, durchgeführt werden kann.

Die Aufgabe wird durch die Merkmale des ersten Patentanspruchs gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind durch die nachgeordneten Ansprüche erfaßt.

5 Im Rahmen der Erfindung wird mittels eines Kollimators mit einer relativ großen Austrittsöffnung von einer breitbandigen Lichtquelle erzeugtes und über eine Lichtleitfaser dem Kollimator zugeführtes Licht auf ein optisches Prisma geleitet, an dessen Basisfläche eine Probenaufnahmeküvette angeordnet ist, deren Boden mit einer die SPR-
10 Methode ermöglichenden dünnen Metallschicht versehen ist. Es liegt im Rahmen der Erfindung auch die Prismenbasisfläche mit genannter Metallschicht zu versehen, oder mittels Immersion ein metallbeschichtetes Substrat auf die Prismenbasisfläche aufzulegen. Das Wesen der Erfindung besteht darin, daß zwischen dem Kollimator und
15 der ersten Prismeneintrittsfläche eine mehrfach in unterschiedlichen Positionen schaltbare Blende vorgesehen ist, bei der mit jedem Schaltzustand definierte Bereiche des Bodens der Probenküvette beleuchtet werden und das jeweils beeinflusste reflektierte Licht über einen zweiten Kollimator mit angeschlossener Lichtleitfaser einem
20 Polychromator zugeführt wird, dessen spektrale Signale von einem CCD- oder Diodenarray erfaßt und an eine Auswerte- und Steuereinheit weitergeleitet werden, innerhalb derer eine Zuordnung zu den jeweiligen Schaltstellungen der Blende als auch zu einem Signal, das von einem auf der Probenküvette vorgesehenen Referenzkanal gewonnen wird, erfolgt.

25 Die Erfindung soll nachstehend anhand schematischer Ausführungsbeispiele näher erläutert werden. Es zeigen:

- 30 Fig. 1 einen Aufbau eines SPR-Meßplatzes nach dem Stand der Technik,
Fig. 2 eine detailliertere Darstellung einer SPR-Anordnung nach vorliegender Erfindung in teilweise perspektivischer Ansicht mit ihren wesentlichen Baugruppen,
Fig. 3a bis c schematisch verschiedene Strahlverläufe, die mit
35 vorliegender Anordnung erzielbar sind, in einer Bodenansicht nach Fig. 2,

Fig. 3d zur Verdeutlichung zwei mögliche Strahlverläufe nach Fig. 3c in Seitenansicht analog zu Fig. 2,

Fig. 4 eine prinzipielle mechanische Ausbildungsmöglichkeit einer Ausführung der mehrfach schaltbaren Blende,

5 Fig. 5 eine prinzipielle elektrooptische Ausbildungsmöglichkeit einer Ausführung der mehrfach schaltbaren Blende und

Fig. 6 beispielhaft eine Ausbildungsmöglichkeit der Probenküvette und des Küvettenbodens.

10 In Figur 1 ist ein Aufbau eines SPR-Meßplatzes nach dem Stand der Technik dargestellt. Von einer Lichtquelle L wird Licht in eine Lichtleitfaser eingekoppelt und über einen ersten Kollimator K1 auf ein optisches Prisma 1 gelenkt. Auf das Prisma 1 ist ein Teflonchip 2a aufgesetzt, der eine Flußkammer 2b beinhaltet, die entsprechend der
15 dargestellten Pfeile von der Probenflüssigkeit durchströmbar ist. Der Prismenbasisbereich ist mit einer dünnen Metallschicht 1a versehen, mit der ein Ligant immobilisiert ist. Das von dieser Fläche reflektierte Licht wird spektral durch die Plasmonenwechselwirkungen, je nach Belegungsgrad der immobilisierten Schicht mit dem Analyten,
20 unterschiedlich beeinflusst und von einem zweiten Kollimator K2 erfaßt und einem Diodenarrayspektrometer D zugeführt.
Da Plasmonenschwingungen nur mit bestimmten Polarisationsrichtungen des einfallenden Lichtes anregbar sind, sind optische Polarisatoren P zumindest in einem der bezeichneten Lichtwege nach Fig. 1 vorgesehen.
25 Eine Anregung der Plasmonenschwingungen mit einer definierten linearen Polarisationsrichtung ist bei der weiter unten beschriebenen erfindungsgemäßen Lösung ebenfalls erforderlich, ohne daß darauf näher eingegangen werden muß, da es sich dabei um eine fachübliche Maßnahme handelt. Mit der zu Fig. 1 beschriebenen Anordnung ist
30 zunächst eine nahezu gleichzeitig durchführbare Multikomponentenanalyse nicht möglich. Zum anderen treten beim praktischen Einsatz dieser Affinitätssensoren insofern Probleme auf, als es durch Temperaturschwankungen zu Brechzahländerungen in den zu untersuchenden Medien kommen kann, welche das Meßsignal
35 verfälschen. Weiterhin können trotz der hohen Selektivität, insbesondere

von biochemischen Reaktionen, unspezifische Bindungen an der immobilisierten Metalloberfläche zu falschen Meßergebnissen führen.

In Figur 2 ist eine detailliertere Darstellung einer SPR-Anordnung nach vorliegender Erfindung in teilweise perspektivischer Ansicht mit ihren wesentlichen Baugruppen dargestellt. Analog zum bekannten Stand der Technik wird Licht, hier einer breitbandigen Lichtquelle L, in eine Lichtleitfaser, vorzugsweise eine Multimoden-Lichtleitfaser, 31 eingekoppelt, einem Kollimator 41 zugeführt und auf die Prismeneintrittsfläche 11 geleitet. Eine besonders bevorzugte Probenküvettenausbildung besteht aus einer Probenküvette 2, die auf die Prismenbasisfläche aufsetzbar ist und deren Innenboden mit genannter dünner Metallschicht versehen ist. Andere Küvettengestaltungen und bspw. das Versehen der Prismenbasisfläche mit genannter dünner Metallschicht, wie nach dem Stand der Technik üblich, sind ebenfalls mit der hier vorgeschlagenen Anordnung realisierbar. Das hier vom Boden der Probenküvette 2 reflektierte Licht wird über die Prismenaustrittsfläche 12 von einem zweiten Kollimator 42 erfaßt und über eine Lichtleitfaser 32 einer Auswertung zugeführt. Die Erfindung beinhaltet abweichend vom bekannten Stand der Technik zunächst das Vorsehen einer örtlich mehrfach umschaltbaren Blende 5, die im Beispiel nach Fig. 2 als eine Blende mit drei schaltbaren Spalten 51, 52, 53 dargestellt ist, wobei in Fig. 2 die Spalte 52, 53 geschlossen und der Spalt 51 geöffnet ist. Die jeweiligen Schaltzustände der Blende 5 werden mittels üblicher und nicht näher dargestellter elektronischer Baugruppen über eine Daten- und Steuerleitung 61 einer Auswerte- und Steuereinheit 6 zugeführt. Weiterhin ist die laterale Ausdehnung der Einzelspalte der Blende 5 so groß festgelegt, daß deren Abbildung die Prismenbasisfläche 13 in einer Erstreckungsrichtung im wesentlichen erfaßt, wie es in Fig. 2 durch die dunkel dargestellte und vom parallelen Licht des ersten Spalts 51 erzeugte Projektionsfläche angedeutet ist. Weiterhin sind in Fig. 2 zwei Probenerfassungsbereiche 21, 22 vorgesehen, die im Beispiel innerhalb der gebildeten doppelten Kammerwandung der Küvette 2, bei der durch den Pfeil z der Probenzufluß und durch Pfeil a der Probenabfluß angedeutet ist, durch eine Wandung 8 räumlich voneinander getrennt sind. Die näheren

Möglichkeiten, die diese beispielhafte Trennung nach sich zieht, wird ausführlicher zu den Figuren 3 und 6 erläutert.

Die Aufteilung des von der Lichtquelle L mit Hilfe der Lichtleitfaser 31 übertragenen Lichtes in die vorgesehenen einzelnen, in den Figuren 3 und 6 näher dargestellten Meßkanäle erfolgt im vom Kollimator 41 kollimierten Lichtstrahl mit Hilfe der mehrfach schaltbaren Blende 5.

In den Figuren 3a und 3b sind schematisch verschiedene Strahlverläufe, die mit vorliegender Anordnung erzielbar sind, in einer Bodenansicht nach Fig. 2 dargestellt. Die Auswahl der einzelnen Meßkanäle erfolgt in allen dargestellten Ausführungsbeispielen zeitlich nacheinander durch eine schaltbare Blende, welche auf verschiedene Art ausgeführt sein kann und die jeweils immer nur einen der durch die Blende gebildeten Lichtstreifen durchläßt. Dieser Lichtstreifen regt dann im zugeordneten Meßkanal (vgl. Fig. 3a, Kanal C1; Fig. 3b, Kanal C2) auf dem metallbeschichteten Küvettenboden die SPR-Schwingungen an, die entsprechend der z. B. biochemischen Wechselwirkungen spektral beeinflußt und vom Kollimator 42 auf die zweite Lichtleitfaser 32 fokussiert und dem Polychromator 7 zur Auswertung zugeleitet werden. Durch die Auswerte- und Steuereinheit 6 wird die Zuordnung der zeitlich aufeinanderfolgenden Spektren zu den Meßkanälen gewährleistet (Zeitmultiplexing).

In Figur 3c ist beispielhaft eine weitere Ausgestaltungsmöglichkeit der vorliegenden Anordnung skizziert, bei der durch eine geeignete Blendenausbildung auch mehrere Lichtstreifen nacheinander in einen Kanal, im Beispiel nur anhand des Kanals C1 durch C11 ... C14 angedeutet, abgebildet werden, so daß durch eine unterschiedliche Immobilisierung der einzelnen Meßflächen auch in der dargestellten Richtung eine Mehrkomponentenanalyse durchführbar ist. Eine derartiges ermöglichende Blende ist beispielhaft in Fig. 4 dargestellt, die hier aus einer Mehrfachspaltblende 5 und einer dieser drehbar zugeordneten Mehrfachlochblende 5' besteht. Elektromechanische oder piezoelektrische Antriebe zum definierten präzisen Verstellen solcher denkbaren Blendenausführungen gehören zum bekannten Stand der Technik und bedürfen an dieser Stelle keiner weiteren Ausführung.

Beliebige Abwandlungen des erforderlichen Blendenprinzips zum Betreiben der vorliegenden Anordnungen liegen im Rahmen der Erfindung. So kann für die örtlich mehrfach umschaltbare Blende 5, 5' auch eine Flüssigkristallzelle 9 zum Einsatz gelangen, die zwischen zwei, in Fig. 5 nicht näher dargestellten Polarisatoren eingebracht ist. Solche Bauelemente (vergleichbar einem LCD-Display) sind kommerziell verfügbar. Durch geeignete Form der Elektroden sind beliebige Blendengeometrien in Anpassung an die Probenküventtenbodenausbildung realisierbar. Zugleich steht bei einer solchen Blendenausbildung am Ausgang der Blende 9 für die Anregung der SPR vorteilhaft linear polarisiertes Licht zur Verfügung. Die serielle Schaltung der einzelnen Kanäle erfolgt durch Anlegen der entsprechenden elektrischen Spannungen an transparente Elektroden der Flüssigkristallzelle. Im Beispiel der Fig. 5 ist ein vollständig eröffneter Leuchtspace S1 und ein nach Verschluss dieses Spaltes eröffnbarer Teilspaltbereich S33 zur Beleuchtung eines Teilprobengebietes Pxy (vgl. Fig. 6) dargestellt.

Da Temperaturschwankungen beim Einsatz der vorgeschlagenen Anordnung unvermeidlich sind, als auch unspezifische Bindungen, wie sie bei der Messung in sehr komplexen Matrizen, wie z.B. Blutplasma oder Auszügen aus Lebensmitteln nicht vollständig auszuschließen sind, an den immobilisierten Oberflächen zu Verfälschungen der Meßergebnisse führen, ist in jedem der dargestellten Ausführungsbeispiele ein frei wählbarer Meßkanal als Referenzkanal reserviert, dessen Verwendung weiter unten beschrieben wird.

In Abhängigkeit von der Meßaufgabe und der konkreten Küvettenausbildung kann der Referenzkanal vielgestaltig ausgeführt sein. So könnte dieser Referenzkanal nach Fig. 2 bspw. der Probenerfassungsbereich 21 sein, der von den eigentlichen Meßkanälen im Probenerfassungsbereich 22 durch die Wandung 8 getrennt ist. Ist eine solche Wandung nicht vorgesehen, kann der Referenzkanal auch durch einen nicht immobilisierten Probenerfassungsbereich gebildet sein und dgl. mehr.

Figur 6 deutet beispielhaft eine Ausbildung von Probenerfassungsbereichen P1 bis P7 an, wobei der Bereich P7 nochmals in Unterbereiche P71 bis P78 unterteilt ist. Zugleich sind in diesem

- Beispiel drei Wandungen 8 und ein Referenzkanal R vorgesehen. Die konkrete Ausgestaltung der Probenküvette 2 und der Probenerfassungsbereiche richtet sich ausschließlich nach dem jeweiligen Einsatzzweck und -ort der vorgeschlagenen Anordnung. So ist es bspw. möglich, die auswechselbare Probenküvette 2 als Bypass auszubilden, der z.B. in einen Flußreaktor einbindbar ist. Der große Vorteil der vorgeschlagenen Anordnung besteht dabei darin, daß der eigentliche optische Meßkopf M, bestehend aus dem Prisma 1, den Kollimatoren 41 und 42 sowie der mehrfach schaltbaren Blende äußerst klein ausgeführt werden kann und als Handgerät einsetzbar ist, während die übrigen, zur Ansteuerung und Auswertung erforderlichen Baugruppen der Anordnung durch eine variabel festlegbare Länge der Lichtleitfasern 31 und 32 weitab vom eigentlichen Meßort stationierbar sind.
- Bei Einsatz der erfindungsgemäßen Anordnung wird grundsätzlich zunächst so vorgegangen, daß zunächst die spektrale Übertragungsfunktion des gesamten Meßsystems aufgenommen und in der Auswerte- und Steuereinheit 6 abgespeichert wird. Dazu wird als eine Möglichkeit zunächst der nicht näher dargestellte Eingangspolarisator so gedreht, daß senkrecht zur Einfallsebene linear polarisiertes Licht analysiert wird. Somit ist keine Anregung von Oberflächenplasmonen möglich. Eine andere Möglichkeit besteht darin, die Probenküvette 2 zunächst mit Luft zu füllen, so daß auch wieder keine Anregung von Oberflächenplasmonen im analysierten Spektralbereich gegeben ist. Damit wäre die Übertragungsfunktion des Systems gewonnen. Die Aufnahme der SPR-Spektren erfolgt in der hier vorgesehenen Anwendung in flüssigen Medien. Bei entsprechendem Design des Meßkopfes M ist die Verwendung der Anordnung jedoch nicht nur auf flüssige Medien beschränkt, ebenso kann in gasförmigen Medien eine Messung auf die gleiche Weise vorgenommen werden. Diese Spektren sind der vorstehend genannten Übertragungsfunktion überlagert. Um ein für die Auswertung vorteilhaftes normiertes SPR-Spektrum zu erhalten, werden nach jeder Einzelmessung die SPR-Spektren, die im Polychromator 7 gewonnen, von einem CCD- oder Diodenarray 71 detektiert und der Auswerteeinheit 6 über eine Datenleitung 62 zugeführt werden, durch die gespeicherte Übertragungsfunktion in der

Auswerteeinheit 6 rechnerisch dividiert. Die Bestimmung der gesuchten Resonanzwellenlänge, d.h. der Wellenlänge, bei der das an der Grenzfläche der Probenerfassungsbereiche reflektierte Licht ein Minimum aufweist, erfolgt z.B. durch Anfitten eines Polynoms eines vorgebbaren Grades und Bestimmung des Scheitelpunkts dieses Polynoms.

In der Auswerte- und Steuereinheit 6 werden jeder momentanen Blendenstellen die zugehörigen gewonnenen Spektren nach erfolgter oben beschriebener Normierung zugeordnet. Je nach Meßaufgabe und Reaktionskinetik kann dieser Vorgang beliebig oft wiederholt werden, um die jeweiligen Minima der Resonanzspektren zu ermitteln.

In einem möglichen Beispiel sollen Meß- und Referenzkanal gleichartig immobilisiert sein. Über eine durch eine Wandung 8 zweigeteilte Probenküvette 2 wird im Meßkanal die zu untersuchende Probe mit der nachzuweisenden Substanz über den Probenerfassungsbereich geleitet, gleichzeitig wird im Referenzkanal eine gleichartige Referenzprobe ohne die nachzuweisende Substanz über den weiteren Probenerfassungsbereich geleitet. Damit werden die Signaländerungen im Referenzkanal, verursacht durch unspezifische Bindungen an der Chipoberfläche und durch Brechzahländerungen in Folge von Temperaturänderungen in gleicher Weise erfaßt wie im Meßkanal. In der Auswerteeinheit werden von den jeweiligen Signaländerungen im Meßkanal die Signaländerungen im Referenzkanal abgezogen, wodurch man nur das durch die spezifische Änderungen hervorgerufene Meßsignal erhält.

Bezugszeichenliste

1	-	Prisma
11	-	Prismeneintrittsfläche
12	-	Prismenaustrittsfläche
13	-	Prismenbasisfläche
1a	-	Metallschicht
2a	-	Teflonchip
2b	-	Flußkammer
K1, K2	-	Kollimatoren
D	-	Diodenarrayspektrometer
P	-	Polarisator
L	-	Lichtquelle
2	-	Probenküvette
21, 22	-	Probenerfassungsbereiche
31, 32	-	Lichtleitfaser
41, 42	-	Kollimator
5	-	schaltbare Blende
5'	-	Mehrfachlochblende
51, 52, 53	-	Blendenspalte
6	-	Auswerte- und Steuereinheit
61	-	Daten- und Steuerleitung
62	-	Datenleitung
7	-	Polychromator
71	-	CCD- oder Diodenarray
8	-	Wandung
9	-	Flüssigkristallzelle
M	-	Meßkopf
a	-	Probenabfluß
z	-	Probenzufluß
C1-C14	-	Meßkanäle
P1-P78	-	Probenerfassungsbereiche
R	-	Referenzkanal
S1-S33	-	Leuchtspalte

Patentansprüche

1. Anordnung für die Oberflächenplasmonen-Resonanz-Spektroskopie (SPR), bestehend aus einem optischen Prisma (1), dem eine Probenküvette (2) zugeordnet ist, wobei die Probenküvette wenigstens zwei Probenerfassungsbereiche (21; 22) aufweist, die Anordnung mit einer für das Verfahren der SPR ausgewählten dünnen Metallschicht versehen ist, von den Probenerfassungsbereichen zumindest einer als oberflächenimmobilisierter Probenerfassungsbereich ausgebildet ist, wobei von einer breitbandigen Lichtquelle (L) ausgehendes Licht über eine Lichtleitfaser (31) der Eintrittsfläche (11) des optischen Prismas (1) durch einen der Prismenbasisfläche (13) in seiner Apertur angepaßten Kollimator (41) kollimiert zugeführt wird, wobei zwischen dem Kollimator (41) und der Eintrittsfläche (11) eine örtlich mehrfach umschaltbare Blende (5, 5'; 9) vorgesehen ist, die zeitlich nacheinander jeweils einen definierten Lichtweg über die Prismenbasisfläche (13) zu einem der Probenerfassungsbereiche freigibt und deren jeweiliger Schaltzustand einer Auswerte- und Steuereinheit (6) über eine Daten- und Steuerleitung (61) zuführbar ist, in der der aktuelle Blendenschaltzustand einem jeweils diesem Schaltzustand entsprechenden Spektrum zuordenbar ist, wobei die Spektren erhaltbar sind durch Erfassen des die Prismenaustrittsfläche (12) verlassenden Lichtes mittels eines weiteren, der Prismenbasisfläche (13) in der Apertur angepaßten Kollimators (42), dessen Ausgang mit einer weiteren Lichtleitfaser (32) verbunden ist, und deren Ausgang den Eingang eines Polychromators (7) bildet, innerhalb dessen das spektral zerlegte Licht einem CCD- oder Diodenarray (71) zugeführt wird, dessen Ausgang mit der Auswerte- und Steuereinheit (6) über eine Datenleitung (62) in Verbindung gebracht ist.

2. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die zum Einsatz gelangenden Kollimatoren (41, 42), das optische Prisma (1) und die örtlich mehrfach umschaltbare Blende (5, 5'; 9) geometrisch zueinander fest angeordnet und in einem Meßkopf (M) integriert sind.

3. Anordnung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die örtlich mehrfach umschaltbare Blende (5; 5'; 9) so ausgebildet ist, daß sie zumindest zwei spaltartige Öffnungsbereiche aufweist, die alternierend in einen geöffneten oder geschlossenen Zustand versetzbar sind, wobei die Länge der spaltförmigen Öffnungsbereiche so festgelegt ist, daß deren Abbildung die Prismenbasisfläche (13) in einer Erstreckungsrichtung im wesentlichen erfaßt.
4. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß für die örtlich mehrfach umschaltbare Blende eine zwischen zwei optischen Polarisatoren angeordnete Flüssigkristallzelle (9) eingesetzt ist, die durch eine entsprechende Elektrodenausbildung definierte Bereiche für den Lichtdurchtritt in einen geöffneten- oder geschlossenen Zustand versetzen läßt.
5. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die örtlich mehrfach umschaltbare Blende durch eine Kombination einer Spaltblende (5) mit einer gegen die Spaltblende verdreh- und/oder verschiebbaren Mehrfachlochblende (5') gebildet ist.
6. Anordnung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Probenküvette (2) durch ein auf die Prismenbasisfläche (13) aufsetzbares Behältnis gebildet ist, wobei der Behältnisinnenboden mit der für die SPR ausgewählten dünnen Metallschicht versehen ist.
7. Anordnung nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Probenküvette (2) wenigstens einen immobilisierten Probenerfassungsbereich (P) aufweist und wenigstens ein weiterer Probenerfassungsbereich (R) frei von immobilisierten Oberflächenbelegungen gehalten und als Referenzkanal eingesetzt ist.

8. Anordnung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß die immobilisierten Probenerfassungsbereiche (C1, C2; P1 ... P7) von dem Probenerfassungsbereich (C3; R), der frei von immobilisierten Oberflächenbelegungen ist, räumlich durch eine Wandung (8) getrennt angeordnet sind.
- 5
9. Anordnung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß zumindest ein immobilisierter Probenerfassungsbereich in mehrere unterschiedlich immobilisierte Bereiche (C11 ... C14; P71 ... P78) aufgeteilt ist.
- 10
10. Anordnung nach Anspruch 1 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß bei einer Anzahl von n streifenförmig erfaßbaren immobilisierten Probenerfassungsbereichen (n + 1) Spalte in der Blende (5) oder einer als Blende wirkenden Baugruppe (9) vorgesehen sind.
- 15

1 / 4

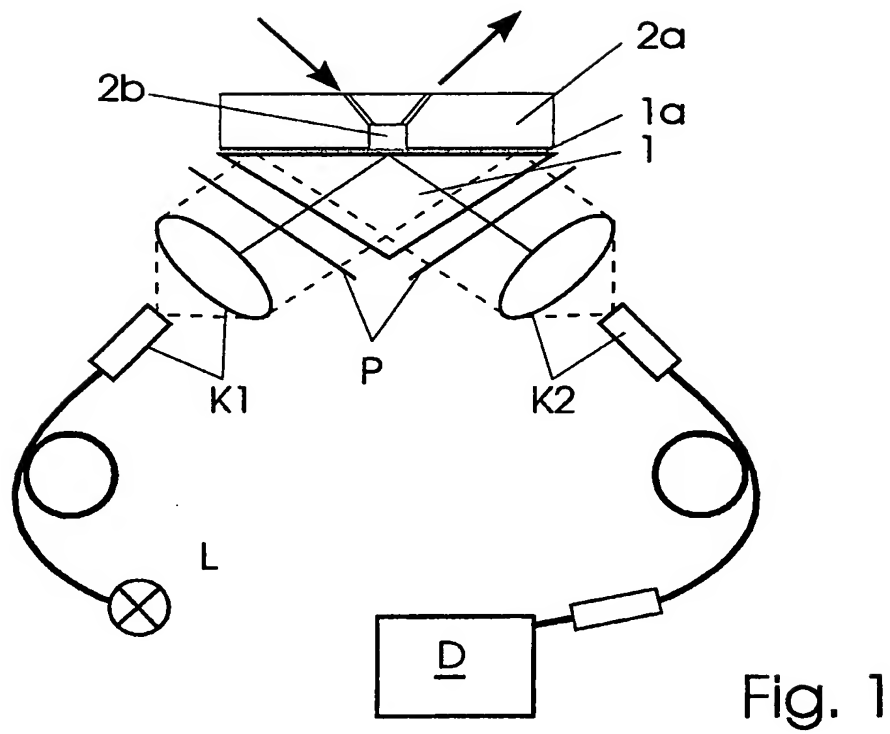
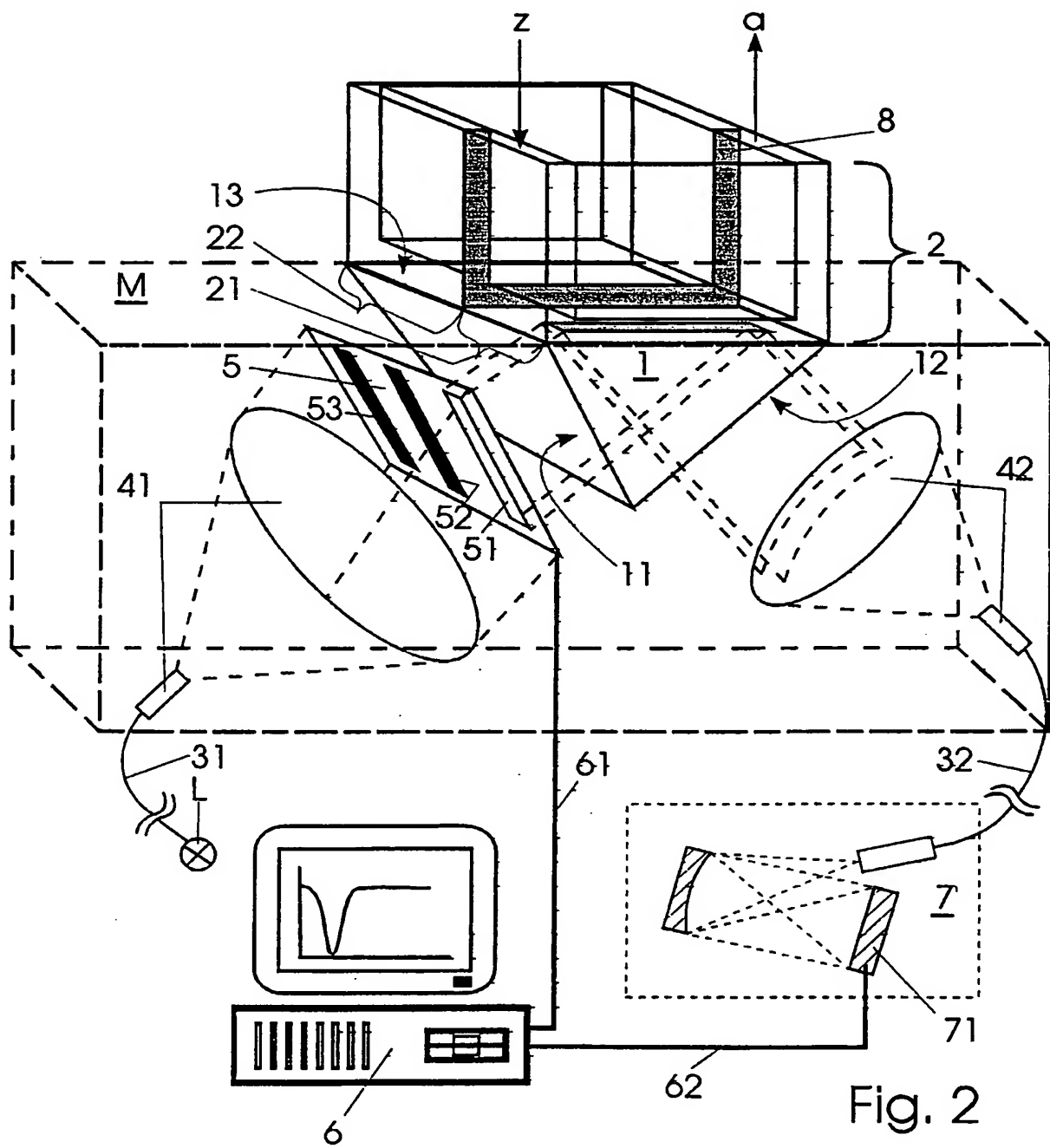
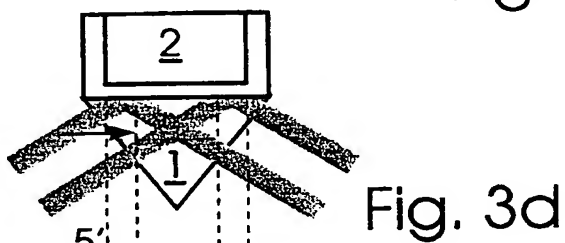
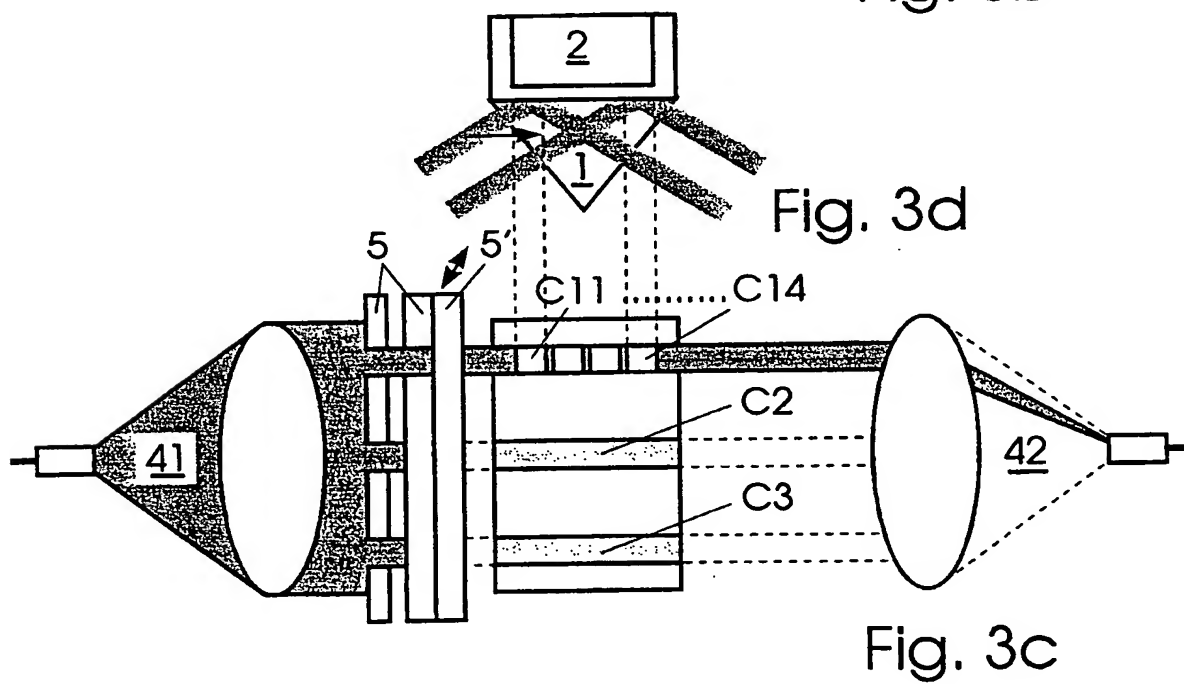
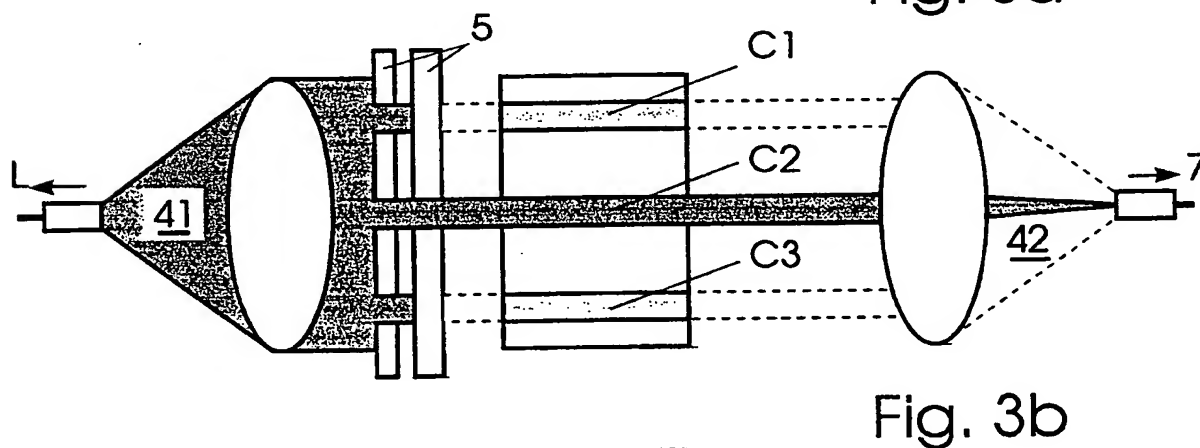
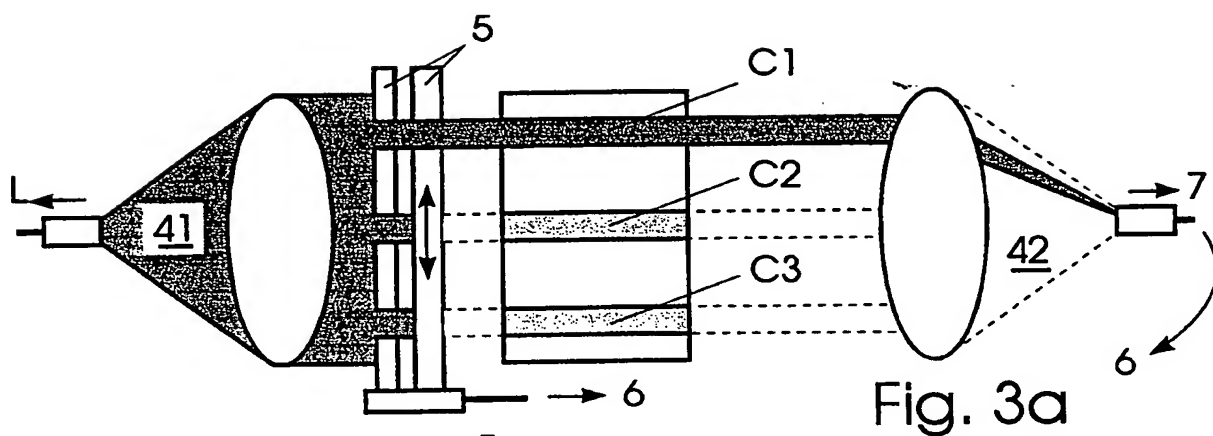


Fig. 1

Stand der Technik





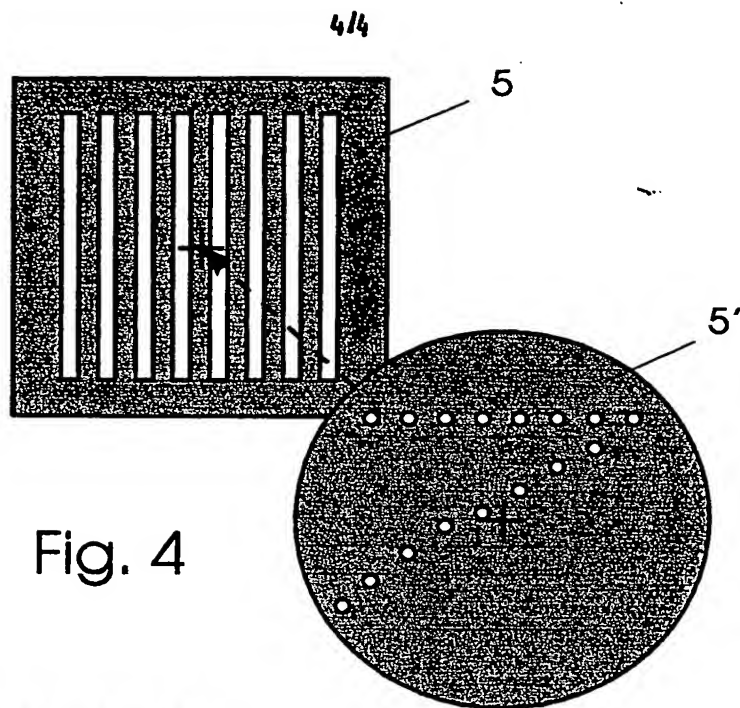


Fig. 4

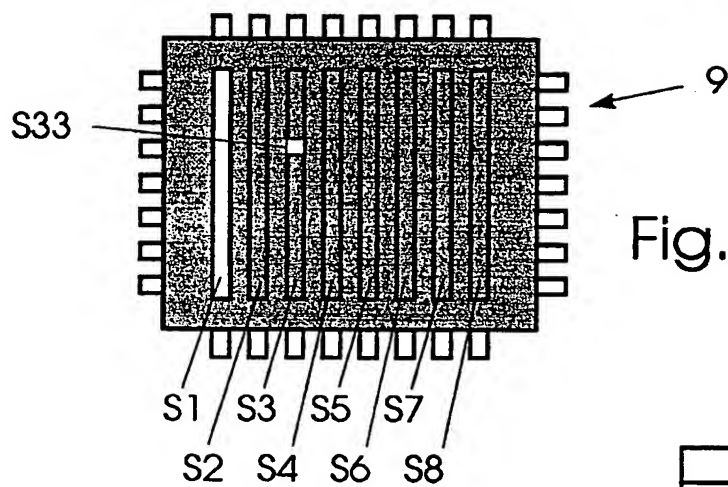
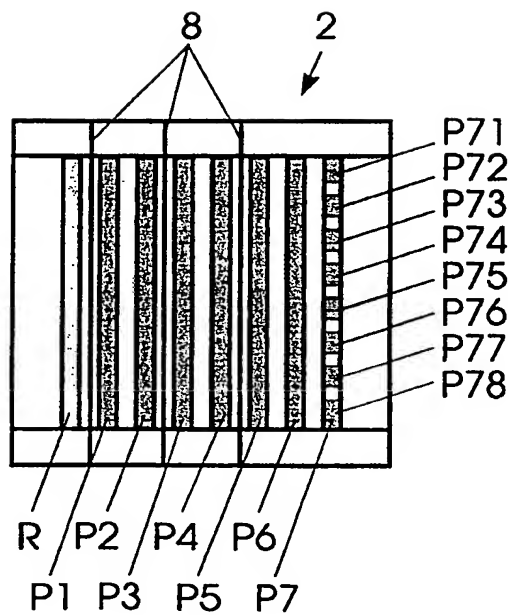


Fig. 5

Fig. 6



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/02353

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 G01N21/55 G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 196 15 366 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 23 October 1997 (1997-10-23) figures 4,9 ---	1-10
A	WO 95 22754 A (VALTION TEKNILLINEN ;LEKKALA JUKKA (FI); SADOWSKI JANUSZ (FI); JOK) 24 August 1995 (1995-08-24) figures 2-4 ---	1-10
A	EP 0 286 195 A (TNO) 12 October 1988 (1988-10-12) figure 4A ---	1-10
A	US 5 491 556 A (STEWART DOUGLAS A ET AL) 13 February 1996 (1996-02-13) figure 3 --- -/--	1-10

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 September 1999

Date of mailing of the international search report

05/10/1999

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mason, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/02353

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 313 264 A (SJOELANDER STEFAN ET AL) 17 May 1994 (1994-05-17) figure 1 -----	1-10
A	WO 93 25909 A (PHARMACIA BIOSENSOR AB ;MALMOVIST MAGNUS (SE); WINTER GREGORY PAUL) 23 December 1993 (1993-12-23) figures 1A,1B -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/02353

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19615366 A	23-10-1997	WO 9740366 A EP 0834066 A	30-10-1997 08-04-1998
WO 9522754 A	24-08-1995	FI 940737 A	17-08-1995
EP 0286195 A	12-10-1988	NL 8700851 A JP 1308946 A US 4889427 A	01-11-1988 13-12-1989 26-12-1989
US 5491556 A	13-02-1996	DE 69324472 D EP 0620915 A WO 9314391 A JP 7502814 T	20-05-1999 26-10-1994 22-07-1993 23-03-1995
US 5313264 A	17-05-1994	SE 462408 B AT 181423 T AT 100197 T DE 68912343 D DE 68912343 T DE 68929019 D EP 0534941 A EP 0442921 A JP 4504765 T JP 4501462 T SE 8804075 A WO 9005295 A WO 9005317 A US 5164589 A	18-06-1990 15-07-1999 15-01-1994 24-02-1994 05-05-1994 22-07-1999 07-04-1993 28-08-1991 20-08-1992 12-03-1992 10-11-1988 17-05-1990 17-05-1990 17-11-1992
WO 9325909 A	23-12-1993	AT 149689 T DE 69308554 D DE 69308554 T DK 645015 T EP 0645015 A JP 7507865 T	15-03-1997 10-04-1997 05-03-1998 15-09-1997 29-03-1995 31-08-1995

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT, EP 99/02353

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 G01N21/55 G01N33/543

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 196 15 366 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 23. Oktober 1997 (1997-10-23) Abbildungen 4,9	1-10
A	WO 95 22754 A (VALTION TEKNILLINEN ;LEKKALA JUKKA (FI); SADOWSKI JANUSZ (FI); JOK) 24. August 1995 (1995-08-24) Abbildungen 2-4	1-10
A	EP 0 286 195 A (TNO) 12. Oktober 1988 (1988-10-12) Abbildung 4A	1-10
A	US 5 491 556 A (STEWART DOUGLAS A ET AL) 13. Februar 1996 (1996-02-13) Abbildung 3	1-10
	--- -/--	



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

27. September 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

05/10/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mason, W

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/02353

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 313 264 A (SJOELANDER STEFAN ET AL) 17. Mai 1994 (1994-05-17) Abbildung 1 ---	1-10
A	WO 93 25909 A (PHARMACIA BIOSENSOR AB ;MALMQVIST MAGNUS (SE); WINTER GREGORY PAUL) 23. Dezember 1993 (1993-12-23) Abbildungen 1A,1B -----	1-10

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/02353

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19615366 A	23-10-1997	WO 9740366 A EP 0834066 A	30-10-1997 08-04-1998
WO 9522754 A	24-08-1995	FI 940737 A	17-08-1995
EP 0286195 A	12-10-1988	NL 8700851 A JP 1308946 A US 4889427 A	01-11-1988 13-12-1989 26-12-1989
US 5491556 A	13-02-1996	DE 69324472 D EP 0620915 A WO 9314391 A JP 7502814 T	20-05-1999 26-10-1994 22-07-1993 23-03-1995
US 5313264 A	17-05-1994	SE 462408 B AT 181423 T AT 100197 T DE 68912343 D DE 68912343 T DE 68929019 D EP 0534941 A EP 0442921 A JP 4504765 T JP 4501462 T SE 8804075 A WO 9005295 A WO 9005317 A US 5164589 A	18-06-1990 15-07-1999 15-01-1994 24-02-1994 05-05-1994 22-07-1999 07-04-1993 28-08-1991 20-08-1992 12-03-1992 10-11-1988 17-05-1990 17-05-1990 17-11-1992
WO 9325909 A	23-12-1993	AT 149689 T DE 69308554 D DE 69308554 T DK 645015 T EP 0645015 A JP 7507865 T	15-03-1997 10-04-1997 05-03-1998 15-09-1997 29-03-1995 31-08-1995